Aus dem Anatomischen Institut der Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. med. T.H. Schiebler

ENTWICKLUNGSGESCHICHTLICHE, HISTOCHEMISCHE UND EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN AN DER GALLENBLASE DES MEERSCHWEINCHENS[+]

INAUGURAL - DISSERTATION

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Klaus Lang

aus Hof/Saale

Würzburg 1967

[+] Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft und des Universitätsbundes Würzburg

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544724_0057

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. med. T.H. Schiebler

ENTWICKLUNGSGESCHICHTLICHE, HISTOCHEMISCHE UND EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN AN DER GALLENBLASE DES MEERSCHWEINCHENS[+]

INAUGURAL - DISSERTATION

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Klaus Lang
aus Hof/Saale

Würzburg 1967

[+] Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft und des Universitätsbundes Würzburg

Referent: Prof.Dr.med. T.H. S c h i e b l e r

Tag der Promotion: 25. 10. 67

UNIV. LEIDEN BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg

GLIEDERUNG

	Seite
Einleitung	4
Material und Methodik	11
Befunde	13
a) Entwicklungsgeschichtliche Untersuchung	13
1. Embryonalzeit	13
2. Postnatale Entwicklung	22
b) Die Gallenblase des erwachsenen Meerschweinchens	24
c) Experimentelle Untersuchungen	26
Diskussion	30
Zusammenfassung	37
Literatur	40

EINLEITUNG

Aus den Untersuchungen von WERNER (1953), WALLRAFF und DIETRICH (1957), SPICER und MEYER (1960), K.YAMADA (1960, 1962 a, b) und WOLF-HEIDEGGER et al. (1965) wissen wir, daß das Gallenblasenepithel in histochemischer Hinsicht weitgehend durch seine Kohlenhydratkomponenten gekennzeichnet wird. Diese Substanzen bilden nach WALLRAFF und DIETRICH (1957) und K.YAMADA (1962 a) zusammen mit Proteinen die Sekrete des Gallenblasenepithels. Gleichrangig neben der sekretorischen Leistung steht die Befähigung des Gallenblasenepithels zur Resorption (VIRCHOW 1857, ASCHOFF und BACMEISTER 1909, KUSNETZOWSKY 1924, TOGARI und OKADA 1953, E.YAMADA 1955, HAYWARD 1962 a, b Lit.). Das Ziel vorliegender Arbeit ist es nun, das Vorkommen und Auftreten der verschiedenen im Gallenblasenepithel des Meerschweinchens histochemisch nachweisbaren Kohlenhydrateiweißkomplexe während der Embryonalentwicklung und postnatal zu untersuchen, sowie die intrazelluläre Lokalisation dieser Substanzen in dieser Zeit zu bestimmen. Einschlägige Arbeiten fehlen bisher vollständig. Ebenso sind Studien über die Histogenese der Gallenblase des Meerschweinchens kaum durchgeführt worden (ISHIKAWA 1950). Auch hier muß unsere Untersuchung die erforderlichen Ergänzungen bringen. Von einer genaueren Bestimmung des Zeitpunktes, an dem die Wand der Gallenblase des Meerschweinchens dem erwachsenen Tier in morphologischer und histochemischer Hinsicht entspricht, hoffen wir zu Rückschlüssen auf die Funktionsaufnahme der Gallenblase zu kommen. Über den Funktionsmechanismus des Gallenblasenepithels selbst sollen uns Fütterungsversuche an Normal- und Hungertieren aufklären. Alle unsere Untersuchungen basieren auf einer genaueren Kenntnis der histologischen und histochemischen Verhältnisse der Gallenblase des erwachsenen Meerschweinchens (CABIBBE 1901, D' AGATA 1911, GOMPPER 1951, HAYWARD 1962 a, K. YAMADA 1962 a, b). Die hier noch bestehenden Lücken sollen durch vorliegende Arbeit ausgefüllt werden.

Das Gallenblasenepithel des Meerschweinchens ist nach JURISCH (1909), GOMPPER (1951) und K. YAMADA (1962 a) einschichtig zylindrisch und besitzt ovale bis runde, basal gelegene Kerne mit wenigen Chromatinparticula und zwei bis drei Nucleoli. Vergleichend histologisch sollen die Epithelzellen der Gallenblase des Meerschweinchens denen der Katze am ähnlichsten sehen. Die Höhe des Epithels ist funktionsabhängig; sie beträgt beim Meerschweinchen 15 - 30 μ (K. YAMADA, 1962 a), beim Menschen 20 - 52 μ (FERNER 1949). In den Epithelzellen der menschlichen Gallenblase unterscheidet FERNER (1949) an Eisenhämatoxylinpräparaten vom Lumen gegen die Basis fünf verschiedene Abschnitte: einen Cuticularsaum, eine subcuticulare dunkle Zone, eine viel hellere supranucleäre Zone, eine Kernzone und eine basale Zone mit scholligem und körnigem Inhalt. Eine ähnliche Zonengliederung wird auch für das tierische Gallenblasenepithel angenommen. Das Vorkommen eines Cuticularsaumes war beim Meerschweinchen lange umstritten (CABIBBE 1901, 1902, JURISCH 1909). Heute kann seine Existenz auf Grund der lichtmikroskopischen Untersuchungen von GOMPPER (1951) und EGLITIS und HAYES (1961) sowie des elektronenmikroskopischen Nachweises von Mikrovilli durch HAYWARD (1962 a) als gesichert gelten. Unter der apikalen Zelloberfläche befindet sich beim Meerschweinchen ein schmaler Streifen von homogenem Cytoplasma, der sich in Form feiner Granulierungen tiefer in die Zelle, zuweilen bis zum Zellkern fortsetzt. Diese Zone enthält nach HAYWARD (1962 a, elektronenmikroskopische Untersuchung) kleine Bläschen, aber keine Mitochondrien, ein Befund, der von K. YAMADA (1962 a, lichtmikroskopische Untersuchung) nicht bestätigt wird. Subcuticular kämen sehr wohl granuläre und stabförmige Mitochondrien vor. Die Mitochondrien selbst sind klein, mit wenigen Cristae und einer sehr dichten Grundsubstanz. Über das endoplasmatische Retikulum gibt es beim Meerschweinchen keine Angaben. Bei der Maus liegt es basal, supranucleär und in der Kernzone. Der Golgiapparat (D'AGATA, 1911) liegt supranucleär (HAYWARD 1962 a). Eine Basalmembran auf der dem Bindegewebe zugewandten Seite des Epithels wurde bisher nur elektronenmikroskopisch bei der Maus gesehen (E. YAMADA, 1955, vgl. PFUHL 1932 Lit.)

Das Gallenblasenepithel des Meerschweinchens besitzt nach JURISCH (1909) und ISHIKAWA (1950) Becherzellen, die von GOMPPER (1951) nicht gefunden wurden. Es kämen nur Übergänge zu Becherzellen vor. Ferner werden im Gallenblasenepithel von Meerschweinchen, Goldhamster und Maus tonnenförmige Zellen und Stiftzellen (K. YAMADA, 1962 b) beschrieben, letztere auch beim Menschen (SUDLER, 1901; ASCHOFF, 1905 und SHIKINAMI, 1908). Die tonnenförmigen Zellen erscheinen bei der Hämatoxylin-Eosinfärbung und bei der Azanfärbung kurz und breit. Im Cytoplasma kommen diffus verteilt schwach färbbare Granula vor. Die runden oder ovalen Kerne dieser Zellen liegen teils zentral, teils exzentrisch. Die Stiftzellen besitzen einen dünnen, dicht granulierten Zellkörper mit einem stabförmigen Kern und einigen runden Nucleoli. Im Gegensatz zu ASCHOFF (1905) sind JURISCH (1909) und FERNER (1949) der Ansicht, daß beim Menschen der größte Teil der Stiftzellen nicht ausgestoßen wird, sondern sich erholt und den Sekretionszyklus von neuem beginnt. - Unter den Nagetieren soll nach JURISCH (1909) im Gegensatz zu GOMPPER (1951) das Meerschweinchen echte Drüsen besitzen. Diese sind von den Luschkaschen Gängen, welche nach HALPERT (1927) aberrierende Gallengänge darstellen, zu unterscheiden. Die Buchten oder Krypten der Gallenblasenwand sind nach WALLRAFF und DIETRICH (1957) nicht mit den Luschkaschen Gängen zu verwechseln.

Weitgehend unbekannt sind bisher Histogenese und Chemodifferenzierung der Gallenblase. Die einzigen einschlägigen Mitteilungen stammen von JURISCH (1909), der das Gallenblasenepithel beim Neugeborenen - im Gegensatz zu dem des Erwachsenen -, zwei- bis dreireihig fand und von ISHIKAWA (1950). Dieser berichtet, daß beim Meerschweinchen während des embryonalen und postembryonalen Lebens Glykogen nur basal vorkommt. Ähnliches gilt nach MORI (1938) und TOGARI und OKADA (1951) für neugeborene Mäuse und Kaninchen. Beim erwachsenen Meerschweinchen liegt Glykogen nahe der freien Oberfläche der Epithelzelle.

Für vorliegende, entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen sind als Bezug die histochemischen Verhältnisse beim adulten Meerschweinchen von Interesse. Hierüber liegen unter anderem Untersuchungen von SPICER (1960) und K. YAMADA (1962 a, b) vor. Die genannten Autoren fanden, daß die Sekrete des Gallenblasenepithels positiv mit PAS, Alcianblau, Aldehydfuchsin-Alcianblau und Alcianblau-PAS reagieren. Ferner kann das Gallenblasensekret mit der Methylenblaupufferfärbung unter pH 4, 0 dargestellt werden. Nach K. YAMADA (1962 a) führt eine kräftige und verlängerte Methylierung zu einer Verstärkung der PAS-Reaktion. Eine milde Methylierung verminderte die Alcianblaufärbung, eine starke und langdauernde blockierte sie völlig. Die Verseifung nach einer milden und nach einer kräftigen Methylierung konnte die Alcianblaufärbung zwar wiederherstellen, aber nicht in ihrer ursprünglichen Intensität. Azur A färbt bei pH 1, 5 und 3, 0 den Schleim des Gallenblasenepithels beim Meerschweinchen schwach, nach K. YAMADA (1962 a) bei pH 4, 5 kräftig. Die Azurophilie pH 4, 5 wird durch Methylierung blockiert, aber durch Sulfatierung und Oxydation gesteigert. Auf Grund dieser Ergebnisse nehmen SPICER (1960) und K. YAMADA (1962 a) an, daß die Gallenblasensekrete reich an neutralen, d.h. PAS-positiven und carboxyl- und sulfatgruppenhaltigen sauren Mucopolysacchariden sind (starke Basophilie des Sekretes).

Proteine lassen sich nach K. YAMADA (1962 a) im Gallenblasenschleim des Meerschweinchens mit der Ninhydrin-Schiff- und der Alloxan-Schiff-Reaktion nur in geringer Menge nachweisen. Die Eiweißkörper enthalten hauptsächlich Tyrosin, Tryptophan, Histidin und an Proteine gebundene α-Acyl-Amido-Carboxylgruppen. Schließlich kommen im Gallenblasenepithel des Meerschweinchens auch Lipide vor, wie die Sudanschwarz B-Färbung beweist.

Über die Lokalisation der im Gallenblasenepithel des erwachsenen Meerschweinchens nachgewiesenen Substanzen wurde bisher wenig berichtet. Bei Mensch, Katze und Maus liegen die neutralen Mucopolysaccharide im Cuti-

cularsaum, sowie in der subcuticularen und supranucleären Zellregion, also apical vom Golgiapparat (WALLRAFF und DIETRICH 1957, HAYWARD 1962 b und WOLF-HEIDEGGER 1965). WOLF-HEIDEGGER (1965) fand ferner supranucleär ein Diastase-labiles, PAS positives Polysaccharid. Nach HAYWARD (1962 b) befinden sich bei der Maus in einigen Epithelzellen supranucleäre, PAS positive Kuppen, welche Diastase-resistent sind. Saure Mucopolysaccharide kommen nach WOLF-HEIDEGGER (1965) im Gallenblasenepithel des Menschen und der Katze im Bereich des Cuticularsaums vor. - Hinsichtlich der Lokalisation der neutralen Lipide bestehen große Unterschiede zwischen der Gallenblase des Meerschweinchens und der menschlichen Gallenblase. Nach K. YAMADA (1962 b) zeigen die subcuticulare und die supranucleäre Zone beim Meerschweinchen eine positive Sudanschwarz B-Färbung, während nach TOGARI und OKADA (1953), WALLRAFF und DIETRICH (1957) und WOLF-HEIDEGGER (1965) bei der menschlichen Gallenblase größere Ansammlungen von Lipiden in der basalen Cytoplasmazone als in der apicalen auftreten.

Die tonnenförmigen Zellen des erwachsenen Meerschweinchens enthalten nach K. YAMADA (1962 b) im apicalen Cytoplasma sehr wenige neutrale Mucopolysaccharide. Glykogen ist in geringer Menge über das ganze Cytoplasma verteilt, während es beim Goldhamster und bei der Maus hauptsächlich im Cytoplasma unter dem Kern liegt (K. YAMADA, 1962 b). Hingegen wurde in den Stiftzellen des Meerschweinchens sehr viel granulärer, PAS-positiver - teils Diastase-resistenter, teils Diastase-labiler - Schleim gefunden. Wenige Tetrazonium-reaktive Proteine enthält das Cytoplasma der tonnenförmigen Zellen, während sie in den Stiftzellen in einer dichten, granulären Verteilung liegen. Ähnlich verhält es sich mit den Lipiden. Im Cytoplasma der tonnenförmigen Zellen des Meerschweinchens sind sie in schwacher Intensität verteilt. Die Stiftzellen färben sich mit Sudanschwarz B kräftig.

Experimentelle Untersuchungen an der Gallenblase, mit dem Ziel histologisch bzw. histochemisch nachweisbare Veränderungen nach Belastung am Epithel dieses Organs zu erfassen, wurden bisher nicht durchgeführt. Dabei wären derartige Studien sehr wohl in der Lage, einen Einblick in die Funktion dieses Organs zu gewähren. So wäre z. B. zu überprüfen, ob das Epithel der Gallenblase zur Fettresorption befähigt ist, wie VIRCHOW (1857), ASCHOFF (1905), POLICARD (1914), KUSNETZOWSKY (1924), NAGAHIRO (1938), TOGARI und OKADA (1953), WALLRAFF und DIETRICH (1957), NYLANDER (1961) und WOLF-HEIDEGGER (1965) für Mensch und Carnivoren und HAYWARD (1962 a) für das Meerschweinchen annehmen. Die Aufnahme von Fett und von Gallenkomponenten soll bei letztem Tier durch Pinocytose erfolgen (HAYWARD 1962 a). Möglicherweise kommen im Gallenblasenepithel von Nagetieren keine zelleigenen Lipide vor (POLICARD 1914, Kaninchen; MORI 1938, Maus; und ISHIKAWA 1950, Meerschweinchen). Andererseits sollen aber in der Gewebekultur die Epithelzellen der Gallenblase Lipide synthetisieren können (HOSONO, 1935). Bekannt ist weiterhin die Fähigkeit des Gallenblasenepithels zur Resorption von Wasser, Cholesterin, Gallenfarbstoffen und anorganischen Salzen. Hierüber liegen ausführliche Untersuchungen von ASCHOFF (1905), ASCHOFF und BACMEISTER (1909), TORINOUMI (1924), BLAISDELL und CHANDLER (1927), ILLINGWORTH (1929), LOEWI (1932), ROUSSELOT und BAUMAN (1935), SCHMIDT und IVY (1937) und NYLANDER (1961) vor, so daß wir in unserer Studie nicht darauf eingehen werden. - Bezüglich der Bildung und Abgabe schleimartiger Substanzen (ASCHOFF 1905, SHIKINAMI 1908, JURISCH 1909, SOMMER 1909, MATHIS 1927, OTT 1937, TOGARI und OKADA 1953 und K. YAMADA 1960 und 1962 a) nimmt K. YAMADA (1962 a) für das Gallenblasenepithel des Meerschweinchens einen regulären Sekretionszyklus an. Er unterscheidet Ruhe-, Aufbereitungs-, Anhäufungs- und Austreibungsphase. Die Sekrete sollen im Golgiapparat gebildet, unter der freien Oberfläche der Zelle angehäuft und dann von der vor-

gewölbten Oberfläche in Form eines sekretorischen Bläschens ausgeschieden werden. Nach der Definition von SCHIEFFERDECKER (1922) müsse man von einer apokrinen, nach der von BARGMANN, FLEISCHHAUER und KNOOP (1961) von einer merokrinen Sekretion sprechen.

MATERIAL UND METHODIK

Untersucht wurden die Gallenblasen von 131 Meerschweinchen (60 embryonale Tiere, 22 Tiere vom 1. bis 31. Lebenstag, 49 ausgewachsene Tiere, davon 24 unbelastet und 25 belastet). Vom 19. und 23. Embryonaltag stammten je 1 Tier, vom 27. Embryonaltag 5 Tiere, vom 30. Embryonaltag 2 Tiere, vom 31. Embryonaltag 8 Tiere, vom 33. Embryonaltag 2 Tiere, vom 36. Embryonaltag 3 Tiere, vom 40. und 44. Embryonaltag je 2 Tiere, vom 48. Embryonaltag 8 Tiere, vom 49. Embryonaltag 2 Tiere, vom 50. Embryonaltag 1 Tier, vom 51. Embryonaltag 2 Tiere, vom 53. Embryonaltag 4 Tiere, vom 55. Embryonaltag 5 Tiere, vom 58. Embryonaltag 3 Tiere, vom 60. Embryonaltag 1 Tier, vom 62. Embryonaltag 2 Tiere, vom 63. Embryonaltag 6 Tiere. Bei der Altersbestimmung wurde vom Konzeptionstermin bzw. von der Scheitel-Steiß-Länge (SSL) ausgegangen. Vom 1. Lebenstag verwendeten wir 2 Tiere, vom 3., 4., 5., 6. je 1 Tier, vom 10., 11., 12. je 2 Tiere, vom 15., 16., 17., 20., 24. Lebenstag je 1 Tier, vom 25. und 27. Lebenstag je 2 Tiere und vom 31. Lebenstag 1 Tier.

Die Belastung von ausgewachsenen Meerschweinchen erfolgte durch Gaben von Olivenöl oder verflüssigter Margarine in Äthernarkose in den Magen mittels Schlundsonde. 4 Hungertiere (28 Stunden) und 1 Normaltier wurden 2 Stunden nach einer einmaligen Olivenölgabe von 5 ccm getötet. 1 Hungertier (28 Stunden) erhielt einmal Margarine. 4 Hungertiere (1 Tier hungerte 45 Stunden, 3 Tiere 28 Stunden) und ein Normaltier erhielten in zwei Tagen 4 mal 5 ccm Olivenöl. 5 Hungertiere (28 Stunden) und ein Normaltier bekamen an 3 Tagen 7 mal 5 ccm Olivenöl; 1 Hungertier (28 Stunden) erhielt an 3 Tagen 7 mal 5 ccm Margarine. Zur Kontrolle wurden 3 Tiere nach 45 Stunden Hunger, 4 nach 28 Stunden Hunger getötet.

Die Fixierung der Gallenblasen erfolgte überwiegend in Bouin'scher Lösung, gelegentlich in 10 %igem Formalin, Susa, Formol-Calcium, Carnoy, Helly, Roßman und Gendre. Paraffineinbettung; Schnittdecke 7 μ ; Kryostatschnitte

(15 µ) nach Fixierung in 10 %igem Formalin.

Regelmäßig ausgeführte Färbungen und Reaktionen: Goldner, Perjodsäure-Schiff-Reaktion mit und ohne Diastasevorbehandlung (1 Std., + 37°C), Alcianblau pH 1,0 (MOWRY 1956), Alcianblau (pH 1,0) - Perjodsäure-Schiff-Reaktion (MOWRY 1956), Dichlorpseudoisocyanin (SCHIEBLER und SCHIESSLER 1959) Aldehydfuchsin-Alcianblau (SPICER und MEYER 1960), Methylenblaupufferfärbung pH 3,6 und 4,5 und Ninhydrin-Schiff-Reaktion. Weiterhin wurden Präparate, aber regelmäßig nur von embryonalen Gallenblasen, methyliert (4 Std. bei 60°C; 0,4 ccm konzentrierte HCl in 50 ccm absolutem Methanol ; SPICER und LILLIE 1959), durch Verseifung demethyliert (1 %ige KOH in 70 %igem Alkohol, LILLIE 1958, SPICER 1960) und anschließend mit Aldehydfuchsin-Alcianblau gefärbt (SPICER und MEYER 1960).

Außerdem wurden häufig folgende Färbungen und Reaktionen verwendet: Pseudoisocyaninchlorid (SCHIEBLER und SCHIESSLER 1959), Alcianblaufärbung pH 2,5 (MOWRY 1956), Alcianblau (pH 2,5)-Perjodsäure-Schiff-Reaktion (MOWRY 1956), Aldehydfuchsin (HALMI und DAVIES 1953), Methylenblaupufferfärbung pH 4,1, Sudanschwarz B, Methylierung 4 Std. bei 37°C (SPICER 1960) und anschließende Perjodsäure-Schiff-Reaktion oder Alcianblau (pH 1,0) -Perjodsäure-Schiff-Reaktion oder Aldehydfuchsinfärbung, Methylierung 4 Std. bei 60°C (SPICER und LILLIE 1959) und anschließende Alcianblau (pH 1,0)-Perjodsäure-Schiff-Reaktion oder Dichlorpseudoisocyanin- oder Aldehydfuchsin-Färbung, Methylierung 4 Std. bei 37° C und Verseifung (Demethylierung) und anschließende Alcianblau (pH 1,0) - Perjodsäure-Schiff-Reaktion oder Aldehydfuchsinfärbung, Methylierung 4 Std. bei 60° C und Verseifung (Demethylierung) und anschließende Alcianblau (pH 1,0)-Perjodsäure-Schiff-Reaktion oder Dichlorpseudoisocyanin- oder Aldehydfuchsin-Färbung.

BEFUNDE

a) ENTWICKLUNGSGESCHICHTLICHE UNTERSUCHUNG

Die Entwicklung der Gallenblase des Meerschweinchens erfolgt kontinuierlich. Sprunghafte Veränderungen haben wir nicht beobachtet, wenn auch bestimmte Tage durch das Sichtbarwerden neuer Differenzierungsschritte besonders auffallen. Zur übersichtlicheren Darstellung unserer Untersuchungsergebnisse werden wir dennoch die Entwicklung der Gallenblase periodenweise schildern. Wir haben jeweils eine Reihe von Tagen zusammengefaßt, da auf den Tag genaue Angaben über bestimmte Entwicklungsschritte wegen der vorhandenen individuellen Unterschiede ohnehin kaum möglich sind; außerdem fehlen uns einige Embryonalstadien. Die Perioden wurden so gewählt, daß sie jeweils durch typische Differenzierungsvorgänge gekennzeichnet werden.

1. Embryonalzeit

30. Embryonaltag. Die Meerschweinchen dieses Alters haben eine durchschnittliche Scheitelsteißlänge von 30 mm. Das Lumen der Gallenblase erscheint im Querschnitt fast rund und wird überwiegend von einem dichten mehrreihigen, stellenweise von einschichtigem Zylinderepithel ausgekleidet. Die Kerne der Epithelzellen sind groß und rund, manchmal abgeflacht und füllen häufig den Zelleib bis auf einen schmalen Cytoplasmasaum aus. Sie sind locker strukturiert und besitzen zwei oder drei Nucleoli. Das Cytoplasma färbt sich nur schwach an und erscheint apikal, weniger ausgeprägt basal, netzartig. Mitosen kommen in geringer Zahl vor. Eine zarte Basalmembran kann mit Hilfe der PAS-Reaktion dargestellt werden. Unter dem Epithel befindet sich lockeres Mesenchym.

Das Cytoplasma des Gallenblasenepithels ist PAS-positiv, basal etwas kräftiger als apikal. Der größte Teil dieses Materials, besonders basal,kann durch Diastase digeriert werden. Offenbar handelt es sich um Glykogen. Nach Diastasebehandlung verbleibt subcuticular eine sehr schwache positive PAS-Reaktion, wohl infolge der Anwesenheit von neutralen Mucopolysacchariden. Bei Anwendung der Alcianblau (pH 1,0)-PAS-Reaktion färbt sich subcuticular eine schmale Zone zart purpurrot. An einigen Stellen treten dort auch rein blaue Farbtöne in Form von schmalen Streifen auf. Ähnlich erscheint bei Färbungen mit Alcianblau(pH 1,0)der Cuticularsaum stellenweise strichförmig blau. Nach SPICER (1960) kann hieraus auf das Vorkommen von sauren Mucopolysacchariden geschlossen werden. Auch mit der Aldehydfuchsin-Alcianblau (pH 2,5)-Färbung werden die apikalen Zellabschnitte blau, nach SPICER und MEYER (1960) ein Hinweis auf nichtsulfatierte saure Mucopolysaccharide. Wird der Aldehydfuchsin-Alcianblaufärbung eine Methylierung mit anschließender Verseifung vorausgeschickt, färben sich die obersten Zellabschnitte verstärkt purpurblau an, wohl infolge der Anwesenheit von Carboxylgruppen. Mit der Methylenblaupufferfärbung (pH 4,5 und 3,6) wird das gesamte Cytoplasma zart blau getönt. Bemerkenswert ist, daß die Färbung bei beiden pH-Werten nahezu gleich intensiv ausfällt. Das apikale Cytoplasma und die Basalmembran zeigen ferner eine kräftige, das basale Cytoplasma eine abgeschwächte metachromatische Reaktion mit Dichlorpseudoisocyanin. Mit der dem Proteinnachweis dienenden Ninhydrin-Schiff-Reaktion schließlich färbt sich das apikale und basale Cytoplasma fein granulär. Wesentlich ist, daß alle Reaktionen mit Ausnahme der auf Glykogen zurückzuführenden PAS-Reaktion äußerst schwach ausfallen.

31. - 50. Embryonaltag. Die Meerschweinchen dieses Alters besitzen eine Scheitelsteißlänge von 30-81 mm. Im Vordergrund stehen während dieser Zeit die morphologischen Differenzierungsvorgänge. In histochemischer Hinsicht treten gegenüber dem Vorstadium wesentliche Veränderungen erst um den 48. Embryonaltag auf.

Am 31. Embryonaltag ist das Epithel einschichtig hochprismatisch. Die Kerne liegen in der Mitte der Zelle. Sie sind unverändert groß, überwiegend oval und locker strukturiert.Mehrere Nucleoli sind vorhanden. Das Cytoplasma kann nun bei allen angewandten histologischen Färbungen angefärbt werden. Die von FERNER (1949) eingeführte Gliederung der Gallenblasenepithelzellen in eine subcuticulare, supranucleäre, nucleäre und basale Zone ist erkennbar. Die stärkste Anfärbung zeigt in der Regel der unmittelbar unter der lumenwärtigen Oberfläche gelegene Zellabschnitt. Supranucleär fallen bei einigen Zellen Aussparungen auf, wie auch basal optisch leere Bezirke vorkommen. Basal ist das Cytoplasma außerdem stark aufgelockert. Eine Basalmembran kann nun auch mit der Goldnerfärbung dargestellt werden. An einigen Stellen der Gallenblasenwand deutet sich die Entstehung von Buchten an.

Am 33. Embryonaltag kommt eine Anzahl von flachen Buchten vor. Die Epithelzellen sind höher geworden, stehen aber noch sehr dicht nebeneinander. An einigen wenigen Stellen finden wir ein zweischichtiges Epithel. Die Zellkerne haben längsovale Form. In einigen Epithelzellen kommt es zu einer Verdichtung des apikalen, in anderen zu einer des basalen Cytoplasmas. Einige Zellen enthalten Kolloidkugeln. Mitosen sind häufig. Die Kernteilungen spielen sich bevorzugt in den apikalen Zellbezirken ab. Eingestreut kommen im Epithel schmale Zellen mit langgestreckten Kernen vor, von denen einige besonders dicht sind. Möglicherweise handelt es sich um Vorläufer der Stiftzellen.

Am 36. Embryonaltag wird in den bisher leeren supranucleären bzw. basalen Aussparungen oder Blasen der Epithelzellen eine zarte Granulierung sichtbar. Das Cytoplasma der Zellen ist insgesamt locker strukturiert. - Erstmalig treten in diesem Embryonalstadium in der Gallenblasenwand - überwiegend subepithelial - Kapillaren auf. Die Kapillarwände reagieren mit PAS, den kombinierten Färbungen Alcianblau-PAS, Aldehydfuchsin-Alcianblau und mit Ninhydrin-Schiff positiv.

Am 40. Embryonaltag hat sich das Cytoplasma der Epithelzellen verdichtet, insbesondere subcuticular. In einigen Zellen nehmen die supranucleär gelegenen blasigen Aufhellungen den ganzen apikalen Zellteil ein. - Vereinzelt treten zu dieser Zeit im Mesenchym der Gallenblasenwand glatte Muskelzellen auf, die sich dann laufend vermehren, so daß am 44. Embryonaltag ein aufgelockertes, angedeutet zirkulär verlaufendes Muskelfasergeflechtwerk entstanden ist.

Am 48. Embryonaltag sind die Buchten des Gallenblasenepithels tiefer als zuvor. Die Differenzierung des Oberflächenepithels hat weitere Fortschritte gemacht. Die Zellen sind höher geworden, ihre Kerne liegen basal und außerdem können jetzt Schlußleisten,sowie die Grenzen zwischen benachbarten Zellen deutlich gesehen werden. Zwischen manchen Epithelzellen bestehen insofern Unterschiede, als einige von ihnen eine subcuticulare Cytoplasmaverdichtung besitzen, die anderen fehlen. Letztgenannte Zellen sehen heller aus. Stellenweise alternieren die beiden Zellarten, stellenweise liegen jeweils Gruppen gleichartiger Zellen nebeneinander. Wir haben aber nicht den Eindruck, daß es sich hierbei um unterschiedliche Zelltypen handelt. Ein Unterschied zwischen dem Epithel an der freien Oberfläche der Gallenblase und in den Buchten besteht nicht. Funktionell bedeutungsvoll scheint uns die Beobachtung zu sein, daß jetzt nahezu alle Zellen eine zarte, locker angeordnete Granulierung besitzen, die apikal meist dichter als basal ist, gelegentlich aber auch umgekehrt. Eine ähnliche Granulierung kommt auch in einigen Zellen von 44-Tage alten Embryonen vor. Die Granula selbst färben sich bei der Goldnerfärbung zart rot an. Möglicherweise handelt es sich hierbei um die ersten Anzeichen einer Sekretbildung.

Die Chemodifferenzierung macht zwischen dem 31. und 47. Embryonaltag nur geringe Fortschritte. Glykogen kann in dieser Zeit gelegentlich auch apikal vermehrt vorkommen, wenn auch wie am 30. Tag die basale Zellregion bevorzugt bleibt. In dem Maße, in dem, mit der Goldnerfärbung nachweisbar, das Cytoplasma der Epithelzellen dichter wird, wird auch die nicht auf Glyko-

gen zurückzuführende PAS-Reaktion kräftiger, ohne jedoch stärkere Intensitäten zu erreichen. Die Alcianblau (pH 1,0)-Färbung ist vom 33. bis 47. Embryonaltag im gesamten Epithel negativ, die Alcianblau-PAS-Färbung läßt nur rote Reaktionsprodukte erkennen. Unter Zugrundelegung der gegenwärtigen Vorstellungen von der Bedeutung der angewandten Reaktionen und Färbungen haben wir den Eindruck, daß das Gallenblasenepithel bis zum 47. Embryonaltag nur wenige Mucopolysaccharide enthält. Diese sind überwiegend neutral und in geringer Menge schwach sauer. Demgegenüber ist Glykogen reichlich vorhanden und vorwiegend basal abgelagert.

Einschneidende Änderungen machen sich histochemisch ab 48. Embryonaltag durch das Auftreten von stark sauren sulfatierten Mucopolysacchariden (Sulfomucinen) in Epithelzellen einiger Buchten bemerkbar. Die Alcianblaufärbung (pH 1,0) wird an den genannten Stellen durch das Auftreten einer von Zelle zu Zelle unterschiedlichen blauen Granulierung positiv. Dieselben Zellen reagieren aber auch intensiv PAS-positiv, insbesondere apikal, so daß an gleicher Stelle nebeneinander stark saure (sulfatierte), Alcianblau (pH 1,0)-positive und neutrale bzw. schwach saure PAS-positive Mucopolysaccharide vorkommen. Bestätigt wird dies durch die kombinierte Alcianblau-PAS-Färbung, die in den genannten Zellen einige Bestandteile rot andere blau darstellt; die blauen überwiegen. Bei der Aldehydfuchsin-Alcianblaufärbung tönen sich die Zellen in den Buchten überwiegend purpur, besitzen aber auch einige eingestreute blaue Granula. Wird der Aldehydfuchsin-Alcianblaufärbung eine Methylierung und Verseifung vorausgeschickt, so werden diese Zellen intensiv purpurblau. Hieraus kann geschlossen werden, daß neben den sulfatierten auch carboxylgruppenreiche saure Mucopolysaccharide vorkommen.- Auch die übrigen, insbesondere am freien Lumen der Gallenblase gelegenen Epithelzellen, beginnen gegenüber der Vorzeit Veränderungen durchzumachen, jedoch weit weniger auffällig als die Zellen in der Buchtentiefe. In den Epithelzellen an der Oberfläche werden durch die Aldehydfuchsin-Alcianblaufärbung cuticulare Zellanteile strichförmig blau gefärbt, vermutlich durch nichtsulfatierte saure Mucopolysaccharide, wogegen das übrige Cytoplasma diffus purpur erscheint

(sulfatierte saure Mucopolysaccharide). Offenbar beginnen im Oberflächenepithel vermehrt saure Mucopolysaccharide aufzutreten, jedoch nie in dem Umfang wie in der Buchtentiefe. Bemerkenswert ist, daß der am 48. Embryonaltag erstmalig beobachtete Unterschied in der Acidität der Schleimstoffe zwischen Oberfläche und Bucht während des ganzen Lebens erhalten bleibt. Ähnlich wie mit lichtmikroskopischen Färbemethoden bestehen auch bei der Methylenblaupufferfärbung (pH 3,5 und 4,1) und bei der Ninhydrin-Schiff-Reaktion keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Epithelzellen der Gallenblase. Mit Methylenblau (pH 3,6)färbt sich das Cytoplasma insgesamt gleichmäßig, bei pH 4,5 basal kräftiger als apikal. Bei der Ninhydrin-Schiff-Reaktion wird apikal eine zarte Granulierung sichtbar, wogegen die basale Zellregion diffus angefärbt ist. - Mit Dichlorpseudoisocyanin reagiert das am Lumen befindliche Epithel kräftiger metachromatisch als das der Buchten.

51. bis 63. Embryonaltag. Die Meerschweinchenembryonen haben eine Scheitelsteißlänge von 80 bis 120 mm. Sie sind am 63. Embryonaltag geburtsreif. Das Gallenblasenepithel unterliegt in dem genannten Zeitraum sowohl in morphologischer als auch in histochemischer Hinsicht einer starken Entwicklung.

Am 51. Embryonaltag besitzen alle Epithelzellen der Gallenblase eine relativ deutliche Granulierung. Unterschiede zwischen Zellen mit stärkerer und weniger ausgeprägter Granulierung beginnen sich anzudeuten. Ein Teil der Epithelzellen besitzt Kuppen, die sich offenbar abschnüren können. Nahezu alle Epithelzellen haben eine subcuticulare Cytoplasmaverdichtung. Vereinzelt kommen Stiftzellen vor. Sie sind schlank und kräftig gefärbt, ihr Kern ist länglich und relativ dicht.

Am 53., 55. und 58. Embryonaltag besitzen alle Epithelzellen der von uns untersuchten Tiere apikal eine kräftige Granulierung, die von Tag zu Tag zunimmt. Bei einigen Zellen kommt oberhalb des Zellkerns eine granulaarme

Zone vor. Am 58. Embryonaltag zeichnen sich einige Zellen in der Tiefe der Buchten durch ein heller gefärbtes Cytoplasma aus. Es handelt sich hierbei um die Zellen, die histochemisch seit dem 48. Embryonaltag auffallen, bisher aber färberisch histologisch nicht hervorgetreten sind. Am 58. Embryonaltag kommen ferner ganz vereinzelt Basalzellen vor, mit dichten, runden Kernen und hellem Cytoplasma. Mitosen sind im gesamten Oberflächenepithel häufig.

Am 60. Embryonaltag zeigt das Gallenblasenepithel viele Buchten und Falten. Das Epithel ist einschichtig, jedoch nicht einheitlich. Neben relativ kräftig granulierten Zellen kommen in größerer Zahl solche mit einem apikal aufgehellten, netzförmigen Cytoplasma vor, in das wenige Granula eingelagert sind. Diese "aufgehellten" Zellen bilden teils Gruppen von 3 bis 4, liegen aber auch einzeln zwischen den übrigen Epithelzellen der Gallenblase. Gelegentlich sind ihre seitlichen Zelloberflächen ausgebuchtet. An der freien Oberfläche kann es zu Substanzaustritten kommen, dem Zeichen einer beginnenden Sekretion. Besonders viele Zellen mit aufgehelltem Cytoplasma kommen in den Buchten vor. Die Kerne aller Epithelzellen der Gallenblase sind rund bis oval und locker strukturiert. Sie liegen weit basal und besitzen deutliche Nucleoli.

Am 63. Embryonaltag, d.h. unmittelbar vor der Geburt, sehen wir in der Gallenblase aller untersuchten Tiere weniger Falten und Buchten als am 60. Embryonaltag. Das Epithel besteht aus typischen, hochprismatischen Epithelzellen, die eine deutliche Granulierung mit subcuticularer Verdichtung besitzen. Daneben kommen etwa in gleicher Zahl wie am 60. Embryonaltag die beschriebenen aufgehellten Zellen vor. Ihre Granulierung hat jedoch zugenommen. Am deutlichsten sind die aufgehellten Zellen in den Buchten zu erkennen. Sie liegen dort weniger gedrängt als an der Oberfläche. Stiftzellen werden nur ganz vereinzelt gesehen.

In histochemischer Hinsicht zeichnen sich am 51. Embryonaltag einige der am freien Lumen der Gallenblase gelegenen Epithelzellen durch eine positive Alcianblau (pH 1,0) -Färbung ihres Cuticularsaums aus. Allerdings ist die Reaktion sehr schwach. Sie nimmt jedoch laufend zu. Am 55. Embryonaltag fällt im subcuticularen Cytoplasma aller Epithelzellen und, soweit vorhanden, in den apikalen Abschnürungen die Alcianblau-PAS-Reaktion tierindividuell verschieden positiv aus: apikal kommen in jeder einzelnen Zelle nebeneinander blau und rot gefärbte Zellbestandteile vor. Das Bild ähnelt dem erwachsener Tiere, wenn auch noch erhebliche Veränderungen bezüglich Menge und Verteilung der Schleimsubstanzen erfolgen. Immerhin steht fest, daß, verglichen mit früheren Stadien, die Acidität des Schleims im Gallenblasenepithel des Meerschweinchens zwischen dem 51. und 55. Embryonaltag durch das Auftreten von stark sauren sulfatierten Mucopolysacchariden (Sulfomucinen) in charakteristischer Weise zunimmt. Innerhalb der Epithelzellen deutet sich eine Abnahme der Acidität von apikal nach basal an. Im Gegensatz zu den apikal gelegenen stark sauren sulfatierten Mucopolysacchariden finden wir die neutralen, schwächer sauren sulfatierten und carboxylgruppenreichen vermehrt basal (PAS-Reaktion, Aldehydfuchsin-Alcianblaufärung mit und ohne Methylierung und Verseifung). - Unabhängig von den geschilderten Veränderungen bleiben die in der Tiefe der Buchten gelegenen Zellen stärker sauer als die an der Oberfläche. Sie zeichnen sich durch eine intensive Alcianblau-PAS-Reaktion aus.

Glykogen ist am 51. und 53. Embryonaltag noch unverändert vorhanden. Am 55. Embryonaltag ist dagegen das Gallenblasenepithel bei 2 von 4 untersuchten Meerschweinchen glykogenfrei und am 58. Embryonaltag wird überhaupt kein Glykogen mehr gefunden.

Am 60. Embryonaltag verändert sich auch in histochemischer Hinsicht das Aussehen des Gallenblasenepithels erneut. Hervorgerufen wird dies durch das Auftreten der oben geschilderten aufgehellten Zellen, deren Cytoplasma insgesamt intensiv PAS-positiv ist und diesbezüglich alle übrigen Epithelzellen

übertrifft. Im vorliegenden Fall dürfte die PAS-Reaktion, wie Kontrollen ergeben, auf die Anwesenheit von neutralen und schwach sauren Mucopolysacchariden zurückzuführen sein. Auffällig ist, daß zwischen den aufgehellten Zellen bei der Alcianblau (pH 1,0) -, der Alcianblau-PAS- und der Aldehydfuchsin-Alcianblaufärbung Unterschiede bestehen. Zwar reagieren alle diese Zellen PAS-positiv, aber nur wenige färben sich mit Alcianblau (pH 1,0) positiv an. Bei der kombinierten Alcianblau-PAS-Reaktion finden wir daher Zellen dieser Art mit nur rot gefärbtem Cytoplasma - die Mehrzahl-, neben solchen, deren Cytoplasma rote und blaue Farbprodukte enthält - vergleichbar den Zellen in der Tiefe der Buchten - und wenige purpurblaue. Aus diesen Färbeergebnissen kann geschlossen werden, daß die verschiedenen aufgehellten Zellen entweder Sulfomucine oder schwach saure, sulfatierte oder nicht sulfatierte saure oder nur neutrale Mucopolysaccharide enthalten. Auf carboxylgruppenreiche Mucopolysaccharide in diesen Zellen weist die purpurblaue Färbung mit Aldehydfuchsin-Alcianblau nach Methylierung und Verseifung hin. - Bezüglich der Methylenblaupufferfärbung (pH 3,6 und 4,1), der Dichlorpseudoisocyanin- und der Ninhydrin-Schiff-Reaktion bestehen keine Unterschiede zwischen den "aufgehellten" Zellen und den übrigen Epithelzellen.

Stiftzellen, die vom 51. Embryonaltag an vereinzelt vorkommen, sind schwach PAS-positiv. Es handelt sich um eine zarte, Diastase-resistente Granulierung. Eine kräftigere Färbung zeigen sie mit den Ninhydrin-Schiff-Reaktion, offenbar infolge vermehrten Proteingehaltes. Die Alcianblau- und die Aldehydfuchsin-Alcianblaufärbung entsprechen denen der anderen Gallenblasenepithelzellen.

Schließlich konnten wir mit histochemischen Methoden (Dichlorpseudoisocyanin, Alcianblau (pH 1,0), Alcianblau-PAS, Methylenblaupufferfärbung pH 3,6 und 4,5) noch das Vorkommen der Mastzellen erfassen. Die färberisch-histologischen Methoden hatten diesbezüglich versagt. Wir finden die ersten Mastzellen am 44. Embryonaltag im subepithelialen Mesenchym. Sie nehmen dann an Zahl zu und kommen auch vereinzelt in der Muscularis vor. Am 60. Embryonaltag entspricht ihre Menge der erwachsener Tiere.

2. Postnatale Entwicklung

Postnatal haben wir die Entwicklung bis zum 31. Lebenstag verfolgt. Wir fanden, daß die ersten 10 Tage noch weitgehend der Ausdifferenzierung der Gallenblase, sowohl in morphologischer, als auch in histochemischer Hinsicht, dienen. Dann jedoch entsprechen die Verhältnisse denen erwachsener Tiere. Veränderungen, die danach auftreten, dürften funktioneller Natur sein.

Am 1. Lebenstag waren die Gallenblasen aller untersuchten Tiere prall mit einer wasserklaren Flüssigkeit gefüllt. In der Folgezeit haben wir dies nicht mehr mit Regelmäßigkeit beobachtet; der Füllungszustand der Gallenblase wechselt, und der Inhalt verfärbt sich von Tag zu Tag zunehmend grünlich. Histologisch finden wir, besonders in den ersten 10 Lebenstagen, bald Gallenblasen mit gedehnter, bald mit gefalteter Wand. Bei Dehnung sind alle Falten und Buchten verstrichen. Die in der Tiefe der Buchten gelegenen Zellen werden an die freie Oberfläche gezogen. Das Epithel wird kubisch. Sobald sich die Gallenblasenwand wieder in Falten und Buchten legt, ein Zustand, der nach dem 10. Lebenstag und beim erwachsenen Tier die Regel ist, wird das Epithel hochprismatisch. Unabhängig von der Epithelhöhe sind alle Zellen deutlich granuliert. Die Granula füllen das gesamte Cytoplasma aus und nehmen bis zum 10. Lebenstag an Menge zu. Supranucleär sind minimale, zart granulierte Aussparungen zu beobachten, die auch später erhalten bleiben. Im ungedehnten Zustand sehen wir an einzelnen Stellen einen Austritt von Granula in das freie Lumen. Bei Dehnung vermehren sich die Zeichen der Sekretion. Die Kerne der Epithelzellen sind rund bis oval und in der Regel locker strukturiert mit mehreren Nucleoli. Bei abgeflachtem Epithel liegen die Kerne nahezu in der Mitte, bei hochprismatischem im basalen Drittel der Zellen. In einigen Zellen - bei kubischem Epithel mehr als bei zylinderischem - sind die Kerne sehr dicht und zeigen pyknotische Erscheinungen. Die Zahl der Mitosen im Gallenblasenepithel hat gegenüber den letzten Embryonaltagen stark abgenommen und vermindert sich mit fortschreitendem Lebensalter weiter. Die Zellen mit aufgehelltem Cytoplasma, die kurz vor der Geburt in großer Zahl vorkommen, werden nach der Geburt immer schwerer erkenn-

bar, da ihre Granulierung zunimmt und sich immer mehr den übrigen Epithelzellen anpaßt. Bei gedehntem Epithel gelingt der Nachweis dieser Zellen nur mit histochemischen Methoden. Ab 10. Lebenstag sind sie nicht mehr vorhanden. Demgegenüber besitzen die in der Tiefe der Buchten gelegenen Zellen weiterhin ein helleres Cytoplasma.

Stiftzellen, die durch ihren langgestreckten Kern, ihr kräftig gefärbtes Cytoplasma und ihre schlanke Form auffallen und gelegentlich ins Lumen vorragen, haben wir regelmäßig und deutlich erst wieder in den Gallenblasen nach dem 10. Lebensjahr gefunden.

Veränderungen, die in histochemischer Hinsicht am Gallenblasenepithel nach der Geburt eintreten, sind in der Regel bereits vorher eingeleitet worden. So fallen zum Beispiel unmittelbar nach der Geburt bei der Alcianblau-PAS-Reaktion in allen Epithelzellen oberhalb des Kerns in größerer Zahl vermischt nebeneinander gelegen blau und rot gefärbte Granula auf. Je älter die Tiere werden, umsomehr konzentrieren sich die blau gefärbten, auf Sulfomucine hinweisenden Granula auf die oberste Zellzone, ohne allerdings vollständig aus der supranucleären Zone zu verschwinden. Am 6., spätestens am 10. Lebenstag, entsprechen die Verhältnisse denen erwachsener Tiere. Bis dahin hat auch die Intensität aller Reaktionen stark zugenommen. Unverändert bleiben nach der Geburt die in der Tiefe der Buchten gelegenen, seit dem 48. Embryonaltag beobachteten Zellen mit einer besonders intensiven Alcianblau-PAS-Reaktion erhalten. Die stärksten Veränderungen betreffen die an der Oberfläche gelegenen Zellen mit aufgehelltem Cytoplasma. Unmittelbar nach der Geburt (1. und 2. Lebenstag) bekommen bei der Alcianblau-PAS-Färbung viele dieser Zellen, die bisher intensiv PAS-rot gefärbt waren, eine purpurblaue Mischfarbe. Danach gleichen sich diese Zellen immer mehr den übrigen Epithelzellen an,und etwa bis zum 6., spätestens bis zum 10. Lebenstag sind sie vollständig aus dem Oberflächenepithel verschwunden. Diese Zellen haben also nur temporären Charakter. Sie sind nur zwischen dem 60. Embryonaltag und 10. Lebenstag nachweisbar, wie bereits aus den färberisch-histologischen Befunden hervorging. Zwischen dem Epithel in ungedehntem

und gedehntem Zustand bestehen nur insofern Unterschiede, als bei der Dehnung die distinkte Lokalisation der verschiedenen nachgewiesenen Mucopolysaccharide verloren geht und eine mehr diffuse Anfärbung , z. B. bei der Alcianblau (pH 1, 0) -Färbung im apikalen Cytoplasma, erfolgt.

b) DIE GALLENBLASE DES ERWACHSENEN MEERSCHWEINCHENS

Ab 10. Lebenstag entspricht das Aussehen der Gallenblase dem erwachsener Tiere. Eine Beschreibung der Morphologie erübrigt sich in Anbetracht der bereits in größerer Zahl vorliegenden Untersuchungen (JURISCH 1909, ISHIKAWA 1950, GOMPPER 1951, K. YAMADA 1962 a). Neue Befunde haben wir nicht erhoben. Anders ist es mit der Histochemie der Gallenblase. Eine zusammenhängende Darstellung für das Meerschweinchen fehlt.

Mit der PAS-Reaktion werden der äußerste Cytoplasmasaum und die subcuticulare Zone aller Epithelzellen der Gallenblase kräftiger positiv als alle übrigen Zellabschnitte dargestellt. Ein ähnliches Färbungsmuster ruft die Alcianblau (pH 1, 0) -Färbung hervor, wobei sich in der Regel von der intensiv gefärbten subcuticularen Zone eine zarte Granulierung kontinuierlich in das apikale, gelegentlich sogar in das basale Cytoplasma fortsetzt.

Nur wenige Male, zwischen dem 17. und 24. Lebenstag, finden wir zwischen einer besonders stark gefärbten supranucleären und der subcuticularen Zone einen Streifen geringerer Granulierung. Bei der kombinierten Alcianblau-PAS-Reaktion zeigt sich, daß in den Epithelzellen Alcianblau-positive und PAS-positive Granula nebeneinander vorkommen. Im cuticularen und subcuticularen Bereich überwiegt die blaue Granulierung. Nach basal hin nimmt die blaue zugunsten einer zart roten ab. - Mit Aldehydfuchsinalcianblau färbt sich das subcuticulare Cytoplasma purpur. Die Farbintensität wird nach basal schwächer. - Anders als die an der Oberfläche gelegenen Zellen. verhalten sich die seit dem 48. Embryonaltag unverändert auffälligen Zellen in der Tiefe der Buchten. Die Alcianblau (pH 1, 0) -Färbung fällt dort besonders kräftig aus und ist nicht nur auf die obersten Cytoplasmaabschnitte beschränkt.

Gleichzeitig reagieren aber auch alle PAS-positiven Zellbestandteile intensiv. Färberisch-histologisch fallen diese Zellen beim erwachsenen Tier durch ein helleres Cytoplasma auf. Sie sind etwas höher und breiter als die an den Oberflächen gelegenen Zellen.

Um die dargelegten Beobachtungen richtig deuten zu können, haben wir verschiedene zusätzliche Untersuchungen und Kontrollen durchgeführt. Dabei fanden wir, daß sich nach einer milden Methylierung (4 Std., 37° C) weder bei der PAS-, noch bei der Alcianblau (pH 1,0)-PAS-Reaktion etwas ändert. Mit Aldehydfuchsin bleibt jedoch nur der Cuticularsaum anfärbbar. Das übrige bisher schwach Adehydfuchsin-positive Cytoplasma wird negativ. Ebenso negativ reagiert das ganze Epithel mit Dichlorpseudoisocyanin und bei der Methylenblaupufferfärbung (pH 3,6 und 4,5). - Unvorbehandelt tritt im Gallenblasenepithel mit Dichlorpseudoisocyanin im wesentlichen subcuticular eine deutliche metachromatische Reaktion auf. Mit der Methylenblaupufferfärbung erweisen sich bei vielen Epithelzellen supranucleär und auch basal verschiedene Zellbestandteile als basophil. - Nach einer starken Methylierung (4 Std., 60° C; SPICER 1960) bleiben bei PAS und bei der kombinierten Alcianblau-PAS-Färbung nur die PAS-positiven Substanzen erhalten. Die Aldehydfuchsin-, Dichlorpseudoisocyanin- und die Methylenblaupufferfärbung (pH 3,6 und 4,5) zeigen keine Reaktion. Durch eine einer milden bzw. kräftigen Methylierung folgende Verseifung werden die Alcianblau-PAS-, die Aldehydfuchsin- und die Dichlorpseudoisocyanin-Reaktion wieder in ihrer ursprünglichen Intensität positiv, wogegen die Methylenblaupufferfärbung (pH 3,6) negativ bleibt.

Mit der Ninhydrin-Schiff-Reaktion erscheint im Gallenblasenepithel eine feine Granulierung. Lipide werden mit Sudanschwarz B im apikalen Cytoplasma als feine Granula oder als Tröpfchen dargestellt, sofern diese Zellzone nicht homogen reagiert. Nach basal nehmen die mit Sudanschwarz nachweisbaren Lipide ab. Weder die färberisch-histologisch beobachteten basalen Aussparungen, noch die subpranucleären Aufhellungen besitzen stärkere Fettansammlungen.

c) EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN

1. Veränderungen durch Hunger

28 Stunden Hunger bewirken im Gallenblasenepithel lediglich das Auftreten von kleineren Zellkuppen mit zum Teil dichter Granulierung (Goldner-Färbung). Bei der Alcianblau-PAS-Färbung ist die Granulierung geringer als beim Normaltier. In den Epithelzellen der Falten finden wir die relativ stärkste Basophilie supranucleär (Methylenblaupufferfärbung pH 3,6 und 4,5). - Nach 45 Stunden Hunger treten im Epithel vermehrt pyknotische Kerne auf. Zellkuppen sind selten. - Insgesamt sind die Veränderungen durch Hunger am Gallenblasenepithel gering.

2. Veränderungen durch Oelgaben bei Hungertieren

Bereits nach einmaliger Oelgabe nimmt die Höhe der Epithelzellen stark zu, allerdings nur bei den am Lumen der Gallenblase gelegenen Zellen. Dort haben sich Zellkuppen ausgebildet, die weit höher als bei den Hungertieren sind. Die Zellkerne sind in die Zellmitte gerückt und haben sich abgerundet. Das Epithel in den Buchten ist von diesen Veränderungen kaum betroffen; dennoch ist es höher als an der Oberfläche. - Viermalige Oelgabe bewirkt bei den Hungertieren eine weitere Vergrößerung der Kuppen, so daß sie fast Papillen ähneln. Auch in den Buchten bekommen einige der Epithelzellen kleinere, dicht granulierte Verwölbungen. - Bei den Hungertieren, die sieben Mal Oel erhielten, sind die Zellkuppen nicht höher geworden, jedoch treten im basalen Cytoplasma der Epithelzellen an der Oberfläche optisch helle Räume mit wenigen Granula auf. Die Zahl der pyknotischen Kerne hat im Vergleich zu den Hungertieren mit einmaliger und viermaliger Oelgabe zugenommen. Ferner hat sich subepithelial ein starkes Oedem gebildet. Die Gefäße sind prall mit Blut gefüllt, und es sind Lymphocytenansammlungen entstanden.

In histochemischer Hinsicht kommt es nach einmaliger Oelgabe in den Epithelzellen der Falten zu einer starken Vermehrung der mit Alcianblau-PAS blau gefärbten Granula. Diese bestimmen jetzt im Oberflächenepithel das Aussehen der apikalen Zellzone; zum Teil kommen diese Granula supranucleär vermehrt vor. Die Buchten sind von diesen Veränderungen nicht betroffen. Offenbar bewirkt bei Hungertieren eine einmalige Oelgabe eine kräftige Zunahme von stark sauren, sulfatierten Mucopolysacchariden (Sulfomucinen). Auch der Schleim im Lumen zeigt bei der Alcianblau- (pH 1,0) PAS-Färbung eine blaue Reaktion. Mit Sudanschwarz B färben sich die Epithelzellen nun auch basal dunkel an. - Bei den Hungertieren mit viermaliger Oelgabe hat die Anzahl der mit Alcianblau-PAS blaugefärbten Granula wieder abgenommen. Nur gelegentlich kann man supranucleär eine Anreicherung beobachten. Meist halten sich im apikalen Cytoplasma die roten und die blauen Granula die Waage. Am äußersten Zellsaum liegen sie etwas dichter als darunter.

Bei der Methylenblaupufferfärbung (pH 3,6 und 4,5) besitzen alle Epithelzellen basal eine deutliche Basophilie.

In den Epithelzellen der Buchten ist die relativ stärkste Basophilie jedoch supranucleär zu beobachten. Die Sudanschwarz B Färbung weist auf eine starke Zunahme an Lipoiden vor allem im apikalen Cytoplasma hin. - Bei Hungertieren nach siebenmaliger Oelgabe finden wir in der Alcianblau-PAS-Färbung wieder mehr blaue und rote Granula als zuvor, diesmal auch in den Epithelzellen der Buchten.

3. Veränderungen durch Oelgaben bei Normaltieren

Die Veränderungen, die bei normal ernährten Tieren am Gallenblasenepithel durch eine einmalige Oelgabe auftreten, sind gering. Die Epithelhöhe hat etwas zugenommen und der apikale Zellsaum ist glatt konturiert. Ferner besitzt das ganze apikale Cytoplasma fast aller Epithelzellen bei der Goldner-Färbung eine gleichmäßige dichte Granulierung. Eine apikale Anhäufung der Granula fehlt. - Nach viermaliger Oelgabe ist das Gallenblasenepithel gleichfalls hoch. Alle

Epithelzellen besitzen Zellkuppen, die auf den Falten höher als in den Buchten sind. Die Zellkuppen des Faltenepithels sind dicht granuliert. In den Epithelzellen der Buchten ist die Granulierung gleichmäßig. Die Kerne liegen in den Zellen der Falten meist in der Zellmitte, manchmal sogar in der subcuticularen Zone. Es werden im Epithel viele Mitosen, aber auch zahlreiche Pyknosen gesehen. - Das Tier mit siebenmaliger Oelgabe besitzt einen glatten Cuticularsaum, der größtenteils von austretenden Schleimgranula bedeckt ist. Im ganzen apikalen Cytoplasma liegt eine gleichmäßig dichte Granulierung vor.

Bei der Alcianblau-PAS-Färbung haben nach einmaliger Oelgabe die blaugefärbten Granula gegenüber den unbehandelten Normaltieren im apikalen Zellbereich aller Epithelzellen zugenommen. Die Basophilie (Methylenblaupufferfärbung pH 3,6 und 4,5) beschränkt sich in den meisten Zellen auf das apikale, vor allem das supranucleäre Cytoplasma, nachdem bei unbehandelten Tieren die apikale und basale Zellzone gleich intensiv reagieren. - Nach viermaliger Oelgabe zeigt die Alcianblau-PAS-Färbung eine starke Konzentrierung der blauen Granula auf das cuticulare und subcuticulare Cytoplasma. Besonders deutlich ist dies in den Epithelzellen der Buchten, in denen im supranucleären Cytoplasma blaue Granula vollständig fehlen. Die Methylenblaupufferfärbung (pH 3,6 und 4,5) fällt in den Epithelzellen der Falten im apikalen Cytoplasma, in denen der Buchten im basalen Cytoplasma am kräftigsten aus. - Das Aussehen der Gallenblase nach siebenmaliger Oelgabe entspricht dem nach viermaliger.

4. Veränderungen durch Gaben von Margarine bei Hungertieren

Etwa 3 Std. nach einmaliger Margarinegabe an Hungertiere gleicht das Epithel der Gallenblase weitgehend dem unbehandelter Normaltiere. Feinere Unterschiede bestehen nur insofern, als die apikale "Zellgrenze" beim Margarinebehandelten Tier glatt konturiert sind. Das apikale Cytoplasma weist in den Falten wie in den Buchten eine gleichmäßige dichte Granulierung auf. Basal kommt nur im Epithel der Buchten eine dichtere Granulierung vor. In den Fal-

ten dagegen kommen in zahlreichen Epithelzellen große, bei der Goldner-Färbung hell aussehende, basal gelegene Bezirke vor. - Nach siebenmaliger Margarinegabe hat die Höhe aller Epithelzellen zugenommen. Der apikale Zellsaum bleibt glatt konturiert. Die in den Epithelzellen der Falten gelegenen optisch leeren Räume sind größer als bei den Tieren mit einmaliger Margarinegabe. Die Kerne der Epithelzellen sind vielfach nach apikal verlagert, zum Teil bis unter die Oberfläche. Die Zahl der Stiftzellen hat deutlich zugenommen. Pyknotische Kerne treten häufig auf.

Bei der Alcianblau-PAS-Färbung zeigt sich nach einmaliger Margarinegabe eine Beschränkung der blau gefärbten Granula auf einen sehr schmalen cuticularen Cytoplasmasaum, der aber auch rote Granula enthält. Das übrige Cytoplasma zeigt nur PAS-positive Substanzen. Die Methylenblaupufferfärbung fällt im ganzen Cytoplasma des Falten- und Buchtenepithels schwach aus. - Nach siebenmaliger Margarinegabe treten bei der Alcianblau-PAS-Färbung nun auch wieder im supranucleären Cytoplasma einiger Oberflächenepithelzellen blaue Granula auf. In anderen werden dort nur PAS-positive Granula beobachtet.

DISKUSSION

Unsere Untersuchung beschäftigt sich mit der Entwicklung der Gallenblase des Meerschweinchens zwischen dem 30. Embryonaltag und dem 31. Lebenstag. Vor dieser Zeit ist zwar die Organanlage vorhanden, es fehlen aber noch alle typischen histologischen und histochemischen Kennzeichen. Die wesentlichen Schritte der Entwicklung spielen sich zwischen dem 48. und 62. Embryonaltag ab. Nach der Geburt wird die Entwicklung lediglich zu Ende geführt. Abgeschlossen ist diese etwa am 10. Lebenstag. Damit erweist sich das Meerschweinchen auch hinsichtlich seiner Gallenblasenentwicklung als typischer Nestflüchter: bis zur Geburt sind alle wesentlichen Entwicklungsschritte abgeschlossen. Verhältnisse, die denen erwachsener Tiere gleichen, werden schon in den ersten Lebenstagen erreicht.

Interessant wäre es, die Entwicklung der Gallenblase bei einem Nesthocker mit der des Meerschweinchens in Beziehung zu setzen. Hier fehlen jedoch entsprechende Untersuchungen. Lediglich HALPERT (1925, 1927) hat die Entwicklung der menschlichen Gallenblase näher beschrieben. Er fand, daß sich beim Menschen die entscheidenden Schritte der Gallenblasenentwicklung in der ersten Hälfte der Embryonalzeit abspielen. Vergleichende Untersuchungen wären auch aus funktionellen Gründen wichtig. Außerdem bestünde die Möglichkeit, dem Problem des Fehlens von Gallenblasen bei verschiedenen Tierarten näher zu kommen. Nach FRANKENBERGER (1926), der bei der Ratte, einem Tier ohne Gallenblase, die Anlage dieses Organs bei 12 Tage alten Embryonen nachweisen konnte, soll das Fehlen von Gallenblasen ein stammesgeschichtlicher Neuerwerb sein.

Besprechen wir nun die einzelnen Entwicklungsperioden der Gallenblase des Meerschweinchens. Merkmal der Differenzierungsvorgänge in den Epithelzellen der Gallenblase zwischen dem 30. und 48. Embryonaltag ist das Tiefertreten der Kerne. Gleichzeitig nimmt die Höhe der Zellen zu und es kommt zu zahlreichen Mitosen. Eigenartig ist, daß sich die Kernteilungen fast aus-

schließlich in den apikalen Zellbezirken abspielen. Nach FERNER (1949) runden sich die Epithelzellen, die sich zur Teilung anschicken, ab; sie lösen ihre basale Verankerung und wandern an die Epitheloberfläche. Verantwortlich hierfür soll Platzmangel in der Basalzone sein; oberflächlich bestünden größere Entfaltungsmöglichkeiten. Ähnliche Verhältnisse liegen im Epithel des Magens, Darms, Nebenhodens und Medullarrohrs vor (ZIMMERMANN 1898).

In histochemischer Hinsicht ist zwischen dem 30. und 48. Embryonaltag in den Epithelzellen der Gallenblase des Meerschweinchens nur Glykogen in größerer Menge nachweisbar. Diese Substanz ist bereits sehr frühzeitig vorhanden, sie nimmt während der Entwicklung an Menge zu, um dann bis zum 58. Embryonaltag vollständig zu verschwinden. Der größere Teil des Glykogens liegt in den basalen Zellabschnitten, nur wenig apikal. Nach ISHIKAWA (1950) soll Glykogen bei Meerschweinchen embryonal und postembryonal nur basal vorkommen. Möglicherweise beeinflußt aber die Fixierung die Glykogenlage (vgl. GRAUMANN 1964).

Über die Bedeutung des Glykogens für das Gallenblasenepithel beim embryonalen Meerschweinchen können wir nur Vermutungen anstellen, da einschlägige Fermentuntersuchungen fehlen. Nach HEIDERICH (1914), PLENK (1931, 1932) und SEELIGER (1937) kann Glykogen für den Aufbau von kohlenhydratreichen Schleimen, nach GRAUMANN (1964) für die Bildung von Hexosephosphaten verwendet werden. Unter letztgenannten Umständen müssen am Ort des Glykogenvorkommens Phosphatasen nachweisbar sein. Schließlich kann Glykogen als Energiequelle in Geweben überwiegend anoxidativen Stoffwechsels verwendet werden. Dies dürfte vor allem in der Embryonalzeit der Fall sein, möglicherweise auch in der Gallenblase des Meerschweinchens. Interessant ist in diesem Zusammenhang die Feststellung von JANOSKY und WENGER (1956), daß während der Embryonalentwicklung Glykogen meist mit dem Einsetzen von Differenzierungsvorgängen verschwindet. Zu dieser Zeit werden vermehrt exogene Energiequellen benötigt (SPRATT 1952).

Außer Glykogen lassen sich zwischen dem 30. und 48. Embryonaltag im Gallenblasenepithel des Meerschweinchens in geringer Menge PAS-positive, neutrale Mucopolysaccharide nachweisen. Sie liegen zunächst nur subcuticular, nehmen dann etwas zu und sind in geringer Menge im ganzen Cytoplasma nachweisbar. Schließlich kommen apikal auch nicht sulfatierte saure Mucopolysaccharide vor. Ihre Menge ist allerdings gering und nimmt in dem Maße, in dem die neutralen Mucopolysaccharide sich vermehren, ab. Schließlich werden sie nur noch in der cuticularen Zellzone gefunden.

Weit interessanter als die Zeit bis zum 47. Embryonaltag ist die dann folgende Entwicklungsperiode. Charakteristisch für diese Zeit ist die fortschreitende Sulfatierung der Schleimstoffe. Während bis zum 47. Embryonaltag nur neutrale und schwach saure Mucopolysaccharide im Gallenblasenepithel nachgewiesen werden können, treten beim Älterwerden der Embryonen immer mehr Substanzen mit stark sauren Sulfatgruppen auf, ohne daß die neutralen und schwach sauren Mucopolysaccharide verschwinden. Ähnliche Verhältnisse liegen nach GRAUMANN (1959) bei der Synthese des Becherzellschleims vor. Es werden zunächst neutrale Schleimstoffe gebildet, die dann supranucleär einer Veresterung unterworfen werden und somit sauren Charakter bekommen. Im Fall des Gallenblasenepithels beobachten wir die ersten stark sauren Mucopolysaccharide am 48. Embryonaltag in den Epithelzellen der neuentstandenen Buchten. Sie überwiegen gegenüber den am gleichen Ort vorhandenen neutralen Mucopolysacchariden. Ein weiterer wichtiger Entwicklungsschritt ist das Auftreten von Sulfomucinen am 51. Embryonaltag im subcuticularen Cytoplasma des an der freien Oberfläche gelegenen Gallenblasenepithels. Basal verfügen diese Zellen über neutrale und schwach saure, zum Teil caroxylgruppenreiche Schleimstoffe. Insgesamt scheint die Acidität des Schleims in den Epithelzellen der Buchten größer zu sein als in denen der Oberfläche. Umgekehrte Verhältnisse sollen nach GRAUMANN (1959) in den verschiedenen Abschnitten der Duodenaldrüsen des Goldhamsters vorliegen. Dort wird in den basalen Drüsenschläuchen ein neutraler, in den oberflächigen ein saurer Schleim gebildet.

Histochemisch dürften wir die frühesten Phasen der Ausbildung von Gallenblasensekreten erfaßt haben, die mit der Funktionsaufnahme des Organs - etwa zwischen dem 51. und 55. Embryonaltag - in engem Zusammenhang stehen; auch unsere morphologischen Beobachtungen sprechen für diese Annahme. Zwischen dem 51. und 55. Embryonaltag werden die Epithelzellen höher, bei der Goldnerfärbung wird eine deutliche Granulierung sichtbar, und das apikale Cytoplasma beginnt sich vorzuwölben.

Schwierig ist es, mit lichtmikroskopischen Methoden den Ort der Sekretentstehung innerhalb der Zellen zu erfassen. Nach K. YAMADA (1962 a) ist auch im Gallenblasenepithel des Meerschweinchens der Golgi-Apparat führend. Diesen Schluß lassen licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen, sowie autoradiographische Befunde an verschiedenen Epithelzellen zu (LEBLOND 1950, PALAY 1958, GABE und ARVY 1961). NEUTRA und LEBLOND (1966) konnten an Becherzellen des Dickdarms zeigen, daß nach Injektionen von Glukose - H^3 der Golgiapparat dieser Zellen markiert wird und radioaktive Granula von dort zur Zelloberfläche wandern. Es gilt als gesichert, daß der Schleim im Golgiapparat entsteht und dort auch sulfatiert wird (PETERSON und LEBLOND 1964, LANE et al. 1964, BERLIN 1967). Nach unseren färberisch-lichtmikroskopischen und histochemischen Beobachtungen kann eine ähnliche Entstehungsweise des Sekrets angenommen werden. Wir haben den Eindruck, daß die Eiweißsubstanzen im basalen Ergastoplasma gebildet und dem Golgiapparat zugeführt werden, in dem dann die neutralen und sauren Schleimstoffe entstehen. Es handelt sich um typische Kohlenhydratproteinkomplexe. K. YAMADA (1960) brachte auf Grund von Untersuchungen am Gallenblasenepithel des Truthahns die Mitochondrien mit der Sekretion in Zusammenhang. Die Mitochondrien sind in den einzelnen Sekretionsphasen verschieden verteilt. Nach TOGARI und OKADA (1953, menschliche Gallenblase) sollen sich die Mitochondrien mit der Entwicklung der sekretorischen Granula an Zahl vermindern. Hierzu können wir keine eigenen Befunde vorlegen. Es könnte jedoch sein, daß es sich bei den in basalen und apikalen Blasen des 36. Embryonaltages auftretenden zarten Granula zum Teil um Mitochondrien handelt.

Kurz vor der Geburt erscheinen im Oberflächenepithel Zellen mit aufgehellten Cytoplasma. Färberisch-lichtmikroskopisch sind sie nur zwischen dem 58. Embryonaltag und dem 10. Lebenstag nachweisbar, histochemisch bereits ab 48. Embryonaltag in den Buchten. Wahrscheinlich handelt es sich bei diesen Zellen nicht um einen eigenen Zelltyp, sondern um Zellen in einem besonderen Funktionszustand. Möglicherweise besteht zwischen dem Verschwinden des Glykogens aus dem Gallenblasenepithel am 58. Embryonaltag und dem Auftreten der aufgehellten Zellen mit stark PAS-positiven, diastaseresistenten Stoffen ein Zusammenhang. Eine Analogie bietet die Glandula submandibularis der neugeborenen Maus (GRAUMANN 1964). Dort treten am 2. Lebenstag Zellen mit periodatreaktiven, metachromatischen Substanzen auf, die später verschwinden.

In ihrem Aussehen ähneln die von uns beschriebenen aufgehellten Zellen den tonnenförmigen Zellen K. YAMADA's (1962 b), in denen geringe Menge PAS-positiver Schleimstoffe vorkommen sollen. Nach JURISCH (1909) sollen die tonnenförmigen Zellen aus Epithelzellen entstehen und Übergangsstadien zu Becherzellen darstellen. Unsere histochemischen Befunde weisen in eine ähnliche Richtung. Außerdem haben ASCHOFF und BACMEISTER (1909) auf das vermehrte Vorkommen von Becherzellen bei menschlichen Embryonen kurz vor der Geburt hingewiesen. Schließlich kann auf vergleichbare Verhältnisse im Dünndarm hingewiesen werden.

Ungeklärt ist das temporäre Auftreten der aufgehellten Zellen. Es wäre möglich, daß diese Zellen in Überproduktion geratene Epithelzellen sind. Sie könnten die Aufgabe der noch nicht voll ausdifferenzierten übrigen Epithelzellen übernehmen und sicher stellen, daß bei Eintritt der Fettverdauung nach der Geburt ein Schleim im Gallenblasenlumen vorhanden ist, der mengenmäßig und in seiner chemischen Zusammensetzung dem der Gallenblase des erwachsenen Meerschweinchens entsprechen würde. Außerdem würde die Bildung dieser Schleimstoffe unmittelbar vor und nach der Geburt einen Schutz für das Epithel gegen die Gallensäuren gewährleisten.

Wesentliches Kennzeichen der Entwicklung der Gallenblase des Meerschweinchens nach der Geburt ist die funktionelle Ausreifung. Sind auch bereits vor der Geburt bei vielen Epithelzellen Zeichen einer Sekretion zu beobachten, so sind diese jedoch noch beschränkt und auch nicht bei allen Zellen nachzuweisen. Unmittelbar nach der Geburt kommt es zu einer starken Vermehrung des Gallenblaseninhaltes, der zunächst noch farbloses Aussehen hat. Spielt hinsichtlich der Menge und Farbe der Galle auch der Beginn der Leberfunktion eine Rolle, so sprechen doch alle unsere Befunde dafür, daß auch das Gallenblasenepithel selbst Stoffe in die Galle abgibt. Im wesentlichen handelt es sich hierbei um saure Schleime. Ein starker Anstieg der Sekretion erfolgt um den 6. Lebenstag. Hinweise auf resorptive Vorgänge der Gallenblase zu dieser Zeit haben wir nicht gefunden. Am 10. Lebenstag gleicht das Gallenblasenepithel dem erwachsener Tiere.

Unsere Experimente haben orientierenden Charakter. Sie sollen Einblick in die Funktion der Gallenblase beim erwachsenen Meerschweinchen gewähren. Wir haben unseren Versuchstieren unter verschiedenen Bedingungen Fette (Olivenöl, Margarine) verabfolgt und beobachtet, daß, sofern die Tiere vorher gehungert hatten, eine Zunahme der Lipide im Cytoplasma der Gallenblasenepithelzellen erfolgt. Die Abstufung der Lipideinlagerung in Abhängigkeit von der Häufigkeit der Fettgabe spricht für Resorptionsvorgänge (vgl. VIRCHOW 1857). Nach HAYWARD (1962 a) soll die Aufnahme von Fett und Fallenkomponenten in das Gallenblasenepithel des Meerschweinchens durch Pinocytose erfolgen. Der Mechanismus der Resorption ähnelt möglicherweise dem im Dünndarm (TUSQUES, SENELAR und GANRY 1961). Dort schnüren sich pinocytotische Bläschen zwischen den Mikrovilli der apikalen Zelloberfläche ab und transportieren die Fettstoffe in die Spalträume des endoplasmatischen Retikulums; von hier bestehen Verbindungen durch die laterale Zellbegrenzung zu den Interzellularspalten des Epithels (PALAY und KARLIN 1959). Der weitere Abtransport des Fettes erfolgt durch die Basalmembran in die interstitiellen Räume der Lamina propria. Eine besondere Bedeutung kommt bei der Resorption möglicherweise den neutralen und stark sauren Mucopolysacchariden an der apikalen Zellbegrenzung zu (SCHMIDT 1962). Die neutralen Mucopolysaccharide

sollen das Haften der Partikelchen am Plasmalemm bewirken. Wesentlich sind weiterhin die sauren Polysaccharide und die apikal reichlich vorhandenen Fermente. Die Fettröpfchen im Gallenblasenepithel entstehen möglicherweise durch Veresterung der resorbierten Fettsäuren mit Cholesterin.

Die Ölgabe an Hungertieren bewirkt einen Sekretionsreiz auf das Oberflächenepithel der Gallenblase. Die Menge der Schleimstoffe im apikalen Cytoplasma und die Zellhöhe des Oberflächenepithels nimmt in Abhängigkeit von der Ölgabe zu. Es kommt zu dicht granulierten apikalen Zellvorwölbungen. Ähnliche Beobachtungen machte BOYDEN (1925) am Gallenblasenepithel der Katze nach Fütterung mit Eigelb und Lecithin. Nach K. YAMADA (1962 a) sind die apikalen Vorwölbungen Ausdruck der Anhäufungsphase im Sekretionscyklus. In der menschlichen Gallenblase soll nach WALLRAFF und DIETRICH (1957) das Buchtenepithel stärker sekretorisch tätig sein als das Faltenepithel. Nach unseren Befunden zeigt das Buchtenepithel im Gegensatz zum Faltenepithel bei der einmaligen Ölgabe an Hungertieren noch keine Sekretionserscheinungen, und bei der viermaligen Ölgabe sind die Zeichen der Sekretion in den Buchten bedeutend geringer als im Oberflächenepithel. Es wird in Abhängigkeit von der Ölgabe das Epithel von der Oberfläche zur Tiefe ergriffen.

Histochemisch äußern sich die Sekretionserscheinungen nach Ölgaben an Hungertiere vor allem in einem vermehrten Auftreten von stark sauren Sulfomucinen im apikalen und im supranucleären Cytoplasma des Oberflächenepithels. Offenbar wird der Golgiapparat zu vermehrter Tätigkeit angeregt. Als Reizmittel auf das Gallenblasenepithel hat sich Olivenöl besser als Margarine bewährt. Dies äußert sich auch bei der Methylenblaupufferfärbung. In der Anhäufungsphase nach Ölgaben kommt es zu einer Verstärkung der Basophilie, in der Ruhephase nach einmaliger Margarinegabe zu einer Abschwächung. Ähnlich sollen sich unter entsprechenden Bedingungen die exokrinen Pankreaszellen der Maus verhalten (HUBER 1949).

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird die Entwicklung der Gallenblase des Meerschweinchens an 82 Tieren vom 19. Embryonaltag bis zum 31. Lebenstag färberisch histologisch und histochemisch untersucht. Im wesentlichen können zwei Perioden unterschieden werden. Die 1. Periode umfaßt die Zeit bis zum 30. Embryonaltag. Kennzeichnend ist reichliches Glykogenvorkommen im Gallenblasenepithel, das bis zum 58. Embryonaltag wieder verschwindet. Außerdem kommen in geringer Menge bis zum 30. Embryonaltag neutrale und nicht sulfatierte saure Mucopolysaccharide vor. In der Zeit zwischen dem 31. und 50. Embryonaltag stehen morphologische Veränderungen im Vordergrund. Die Epithelzellen werden höher, die Kerne wandern nach basal, es tritt im apikalen Cytoplasma eine zarte Granulierung auf. Außerdem entstehen Epithelbuchten. Ab 48. Embryonaltag können in der Tiefe der Buchten Zellen mit sauren sulfathaltigen Mucopolysacchariden nachgewiesen werden. In der Folgezeit (51. Embryonaltag bis zur Geburt) wird die morphologische Differenzierung des Gallenblasenepithels abgeschlossen. Außerdem treten nun auch im Oberflächenepithel der Gallenblasenschleimhaut saure sulfatierte Mucopolysaccharide auf. Offenbar wird der Schleim der Gallenblase im Laufe der Entwicklung saurer. Zeichen von Sekretion sind ab 60. Embryonaltag im Gallenblasenepithel nachweisbar. Als Besonderheit zwischen dem 58. Embryonaltag und 10. Lebenstag können wir im Gallenblasenepithel sog. "aufgehellte" Zellen nachweisen, die wir für Zellen in einem besonderen Funktionszustand halten. - Nach der Geburt wird die eingeleitete Entwicklung der Gallenblase zu Ende geführt, ohne daß noch wesentliche Veränderungen zu beobachten sind. Die Entwicklung ist bis zum 10. Lebenstag abgeschlossen.

Experimentelle Untersuchungen zum Studium der Resorption und Sekretion

des Gallenblasenepithels haben wir an 25 erwachsenen Meerschweinchen (dazu 24 Kontrolltiere) durchgeführt. Deutliche Veränderungen treten nur bei Ölgaben an Hungertiere auf. Es kommt vor allem zu starken Vorwölbungen der apikalen Zelloberfläche (Sekretion) und zu einer starken Lipidablagerung im basalem Zellteil (Resorption).

Herrn Professor Dr. med. T.H. Schiebler möchte ich für die Überlassung des Themas und für die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung der Arbeit danken.

LITERATUR

D' AGATA, G. — Über eine feine Struktureigentümlichkeit der Epithelzellen der Gallenblase. Arch. mikrosk. Anat. 77, 78-81 (1911).

ASCHOFF, L. — Bemerkungen zur pathologischen Anatomie der Cholelithiasis und Cholecystitis. Verh. Dtsch. Path. Ges. 9. Tagg. 1905, 41-48 (1905).

ASCHOFF, L. und A. BACMEISTER — Die Cholelithiasis. Jena (1909).

BARGMANN, W., K. FLEISCHHAUER und A. KNOOP — Über die Morphologie der Milchsekretion. II. Zugleich eine Kritik am Schema der Sekretionsmorphologie. Z. Zellforsch. 53, 545-568 (1961).

BERLIN, J. D. — The localization of acid mucopolysaccarides in the golgi complex of intestinal goblets cells. J. Cell. Biol. 32, 760-766 (1967).

BLAISDELL, F. E., and L. R. CHANDLER — The relation between cholesterolemia and deposits of cholesterol in the gall-bladder: An experimental study. Amer. J. Med. Sc. 174, 492 (1927).

BOYDEN, A. — The effect of natural foods on the distention of the gall-bladder with a note on the change in pattern of the mucosa as it passes from distention to collaps. Anat. Rec. 30, 333-364 (1925).

CABIBBE, G. — Contributo allo studio istologico della cistefellea e del coledoco. Atti Accad. Fisiocrit. Siena. IV, s. 12, 437 - 441 (1901).

CABIBBE, G.

Contributo allo conescenza della struttura della cistefellea e del coldoco in alcuni vertebrati inferiori e nell'uomo.

Atti Accad. Fisiocrit. Siena IV. s. 14, 361-396 (1902).

EGLITIS, J.A. and R. HAYES

Free surface of the gall-bladder epithelium with the light microscope.

Anat. Rec. 140, 61-69 (1961).

FERNER, H.

Über das Epithel der menschlichen Gallenblase.

Z. Zellforsch. 34, 503-513 (1949).

FRANKENBERGER, Z.

Sur la morphologie et le développement des voies biliaires chez le genre mus.

Archives d' Anat. 6, 201-216 (1926).

GABE, M., and L. ARVY

Gland cells.

In: The Cell (J. BRACHET and A.E. MIRSKY, ed). Vol. V p 1-82. New York and London: Academic Press 1961.

GOMPPER, H.

Über das schleimartige Sekret der Gallenblase.

Z. mikrosk. -anat. Forsch. 57, 280-303 (1951).

GRAUMANN, W.

Zur Charakterisierung epithelialer Schleimstoffe.

Verh. d. Anat. Ges. (56. Vers. in Zürich 1959) Anat. Anz . Erg. -Heft zum 106/107. Bd., 103 - 107 (1960).

GRAUMANN, W.

Polysaccharide.

In: Handbuch der Histochemie (W. Graumann und K. Neumann Hrsg.) Bd. II/2 Stuttgart: Gustav Fischer 1964.

HALMI, N.S., and J. DAVIES

Comparison of aldehyde fuchsin staining metachromasia and periodic acid-schiff reactivity of various tissues.

J. Histochem. Cytochem. 1, 447- 459 (1953).

HALPERT, B. — Recent observations on the structure and function of the gall-bladder (abstract). Anat. Rec., 29, 359 (1925).

HALPERT, B. — Morphological studies on the gall-bladder. 1. A note on the development and the microscopic structure of the normal human gall-bladder. Bull. John's Hopkins. Hosp. 40, 390 - 408 (1927).

HAYWARD, A. F. — Electron microscopic observations on absorption in the epithelium of the guinea pig gall-bladder. Z. Zellforsch. 56, 197 - 202 (1962).

HAYWARD, A. F. — Aspects of the fine structure of the gall-bladder epithelium of the mouse. J. Anat. (London) 96/2, 227-236 (1962).

HEIDERICH, F. — Das Glykogen des Magenoberflächenepithels. Verh. d. Anat. Ges. (28. Vers. in Innsbruck). Anat. Anzeiger, Erg. Heft zum 46. Bd., 85 - 89 (1914).

HOSONO, Sh. — Cultivation in vitro of the epithelium of the gall-bladder from guinea-pig. III. Soc. Path. Jap. 25, 430-431 (1935).

HUBER, P. — Beitrag zur Kenntnis zytologischer Vorgänge bei der Bildung von Sekretstoffen in der Acinuszelle des Pankreas. Z. Zellforsch. 34, 428-470 (1949).

ILLINGWORTH, C. F. W. — Cholesterosis of the gall-bladder: A clinical and experimental study. Brit. J. Surg. 17, 203 (1929).

ISHIKAWA, M. — Histogenetic study of the gall-bladder in the guinea-pig. Nagoya Igakkai Zasshi 64, 267-276 (1950), in japanisch; zit. n. TOGARI, C. H. and T. OKADA 1953).

JANOSKY, I.D., and WENGER, B.S.

A histochemical study of glykogen distribution in the developing nervous system of amblystoma.

J.Comp.Neurol. 105, 127-150 (1956).

JURISCH, A.

Beiträge zur mikroskopischen Anatomie und Histologie der Gallenblase.

Anat.Hefte 39, 393-467 (1909).

KUSNETZOWSKY, N.

Über die Fettresorption und Ausscheidung durch das Epithel der Gallengänge.

Mitt.Grenzgeb. Med.Chir. Bd. 37 (1924).

LANE, N., L. CARO, L.R. OTERO-VILARDEBÓ and G.C. GODMAN

On the site of sulfation in colonic goblet cells.

J.Cell.Biol.21, 339-352 (1964).

LEBLOND, C.P.

Distribution of perjodic acid - reaktive carbohydrates in the adult rat.

Amer.J.Anat.86, 1-49 (1950).

LILLIE, R.D.

The nile blue reaction of peptic gland zymogen granules: The effect of methylation and alkali demethylation.

J.Histochem.Cytochem.6, 130-132 (1958).

LOEWI, G.

Vésicule et Cholestérol absorption ou Sécrétion?

Arch. mal.app.digest. 22, 937 (1932).

MATHIS, J.

Über die Sekretionserscheinungen in Gallengängen; zugleich ein Beitrag zur Lehre von der apokrinen Sekretionsart.

Z.mikrosk.-Anat.Forsch., 10, 527 - 582 (1927).

MORI, S.

Histology and histogenesis of the gall-bladder in the mouse.

Nagoya Igakkai Zasshi 47, 585-606 (1938).

MOWRY, R.W.

Alcian blue techniques for the histochemical study of acidic carbohydrates.

J.Histochem.Cytochem.4, 407 (1956).

NAGAHIRO, K.

Cytologische Untersuchungen über die Epithelzellen der Gallenblase des Menschen.

Cytologia Tokyo 9, 132-163 (1938), zit. n. Biol. Ber. 48, 285 (1939).

NEUTRA, M., and C. P. LEBLOND

Synthesis of the carbohydrate of Mucus in the golgi complex as shown by electron microscope radioautography of goblet cells from rats injected glucose -H^3.

J. Cell. Biol. 30, 119-136 (1966).

NYLANDER, G.

Accumulation of lipids in the gall-bladder and biliary tract epithelium resulting from prolonged alimentary administration of cholesterol and thiouracil in the dog.

Acta Chir. Scand. 120, 431-438 (1961).

OTT, H.

Das Gallengangsystem des Schweins.

Z. Anat. Entw. Gesch. 107, 7-17 (1937).

PALAY, S. L.

The morphology of secretion.

In: Frontiers in Cytology, Yale University Press., New Haven 305-342 (1958).

PALAY, S. L., and L. J. KARLIN

An electron microscopic study of the intestinal villus. II. The pathway of fat absorption.

J. biophys. biochem. Cytol. 5, 373-384 (1959).

PETERSON, M., and C. P. LEBLOND

Synthesis of complex carbohydrates in the golgi region, as shown by autography after injection of labeled glucose.

J. Cell. Biol. 21, 143-147 (1964).

PFUHL, W.

Die Gallenblase und die extrahepatischen Gallengänge.

In: Handbuch der mikkr. Anat. d. Menschen. (W. v. Möllendorff, Hrsg.) Bd. V/2 426-462 Berlin, Springer 1932.

PLENK, H.

Zur Entwicklungsgeschichte des menschlichen Magens.

Z. mikrosk. anat. Forsch. 26, 547-645 (1931).

PLENK, H.

Der Magen.

In: Handbuch der mikr. Anat. d. Menschen. (W. v. Möllendorff, Hrsg.) Bd. V/2 1-205, Berlin, Springer 1932.

POLICARD, A.

Sur les phénomènes d'absorption au niveau de l'épithélium de la vésicule biliare de l'homme.

C. R. Soc. Biol., (Paris) 76, 338-340 (1914).

ROUSSELOT, L. M., and L. BAUMANN

Experimental production of cholesterosis of the gall-bladder, with observations on the cholesterol absorptive properties of the gall-bladder wall.

Surg. Gynec. Obst. 61, 585 (1935).

SCHIEBLER, T. H. und S. SCHIESSLER

Über den Nachweis von Insulin mit den metachromatisch reagierenden Pseudoisocyaninen.

Histochemie 1, 445-465 (1959).

SCHIEFFERDECKER, P.

Die Hautdrüsen des Menschen und der Säugetiere, ihre biologische und rassenanatomische Bedeutung, sowie die musklaris sexualis.

Zoologia 27, 1-154 (1922).

SCHMIDT, W.

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen über die intrazelluläre Verarbeitung von Vitalfarbstoffen.

Z. Zellforsch. 58, 573-637 (1962).

SCHMIDT, C. R., and A. C. IVY

The general function of the gall-bladder.

J. Cell. Comp. Physiol. 10, 365-383 (1937).

SEELIGER, M.

Über den Bau des Gallengangsystems bei den Carnivoren (Hund und Katze) mit besonderer Berücksichtigung der Schleimbildung und des Glykogengehaltes.

Z. Zellforsch. 26, 578-602 (1937).

SHIKINAMI, J. Beiträge zur mikroskopischen Anatomie der Gallenblase. Anat. Hefte 36, 551-599 (1908).

SOMMER, A. Die Epithelzellen der menschlichen Gallenblase. Verh. anat. Ges. (1909) (Anat. Anz. 34, Erg. H.), 148-152.

SPICER, S.S. A correlative study of the histochemical properties of rodent acid mucopolysaccharides. J. Histochem. Cytochem. 8, 18-34 (1960).

SPICER, S.S., and R.D. LILLIE Saponification as a means of selectively reversing the methylation blockade of tissue basophilia. J. Histochem. Cytochem. 7, 123-125 (1959).

SPICER, S.S., and D.B. MEYER Histochemical differentiation of acid mucopolysaccharides by means of combining aldehyde fuchsin-alcian blue staining. Amer. J. Clin. Path. 33, 453-460 (1960).

SPRATT, jr. N.T. Metabolism of the early embryo. Ann. N.Y. acad. Sci. 55, 40-50 (1952).

SUDLER, M.T. The architecture of the gall-bladder. Bull. Johns Hopkins Hosp. 12, 126-128 (1901).

TOGARI, C.H., and T. OKADA Histology and histogenesis of the gall-bladder in the rabbit. Arch. Hist. Jap. 2, (1951, in Japanisch, zit. n. TOGARI, C.H. and T. OKADA 1953).

TOGARI, C.H., and T. OKADA The minute structure of the epithelium of the human gall-bladder. Okajimas. Fol. Anat. Jap. 25, 1-12 (1953).

TORINOUMI, K. Woher stammt das Cholesterin der Gallensteine? Zieglers Beitr. Bd. 72 (1924).

TUSQUES, J., R. SENELAR, Cl. GANRY

Élaboration de cholésterides par l'epithelium de la vésicule biliaire dans un processus de résorption lipidique.

Ann. Histochim. 6, 23-32 (1961).

VIRCHOW, R.

Über das Epithel der Gallenblase und über einen intermediären Stoffwechsel des Fettes.

Virchows Arch. 11, 574-578 (1857).

WALLRAFF, J. und K. F. DIETRICH

Zur Morphologie und Histochemie der Steingallenblase des Menschen.

Z. Zellforsch. 46, 155-231 (1957).

WERNER, I.

Studies on glykoproteins from mucous epithelium and epithelial secretions.

Acta. Soc. med. Upsal. 58, 1-55 (1953).

WOLF-HEIDEGGER, G., W. STÄUBLI und R. HESS

Zur Ultrastruktur und Histochemie der Gallenblasenschleimhaut des Menschen und der Katze. Vorläufige Mitteilungen.

Acat Anat. 62, 606-618 (1965).

YAMADA, E.

The fine structure of the gall-bladder epithelium of the mouse.

J. Biophys. Biochem. Cytol. 1, 445-458 (1955).

YAMADA, K.

A unique mode of apocrine secretion in the gall-bladder epithelium of clemmys japonica with a note on the histochemical quality of the secretory material.

Okajimas Fol. Anat. 35, 47-76 (1960).

YAMADA, K.

Morphological and histochemical aspects of secretion in the gall-bladder epithelium of the guinea pig.

Anat. Rec. 144, 117-128 (1962).

YAMADA, K.

Chemocytological observations on two pecular epithelial cell types in the gall-bladders of laboratory rodents.

Z. Zellforsch. 56, 180-187 (1962).

ZIMMERMANN, K. W.

Beiträge zur Kenntnis einiger Drüsen und Epithelien.

Arch. mikrosk. Anat. 52, 552-706 (1898).

LEBENSLAUF

Am 4. Januar 1938 wurde ich, Klaus Lang, als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Fritz Lang und seiner Ehefrau Grete geb. Müllner in Hof/Saale geboren.

Nach vier Jahren Volksschule in Bayreuth und in Oberammergau besuchte ich zunächst in Ettal, dann in Garmisch/Partenkirchen das Humanistische Gymnasium. Das Abitur bestand ich am Humanistischen Gymnasium in Garmisch/Partenkirchen und begann im Wintersemester 1959/60 das Medizinstudium an der Universität Würzburg, wo ich nach zwei Semestern das Vorphysikum ablegte. Nach zwei weiteren Semestern an der Universität Würzburg setzte ich mein Studium in Erlangen fort. Dort bestand ich im Frühjahr 1963 das Physikum. Anschließend kehrte ich an die Universität Würzburg zurück, wo ich mein Studium im Sommersemester 1967 mit dem Staatsexamen beendete.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Klaus Lang

BÖHLER-DRUCK

87 WÜRZBURG, Wirsbergstr. 10
Tel. 54143